

Mr Ilija Karov

**PROUČAVANJE NEKIH MORFOLOŠKIH I FIZIOLOŠKIH OSOBINA
HELMINTHOSPORIUM ORYZAE BREDI DE HAAN
STUDY OF SOME MORPHOLOGIC AND PHYSIOLOGIC PROPERTIES OF
HELMINTHOSPORIUM ORYZAE BREDI DE HAAN**

Posebna otisak iz časopisa »Zaštita bilja«, Vol. XXX, br. 148
Reprint from »Plant Protection«, Vol. XXX, No 148

Beograd, 1979.

Mr Illja Karov

institut za pirinač, Kočani

PROUČAVANJE NEKIH MORFOLOŠKIH I FIZIOLOŠKIH OSOBINA *HELMINTHOSPORIUM ORYZAE* BREDA de HAAN¹⁾

Izneti su rezultati proučavanja nekih morfoloških i fizioloških osobina *Helminthosporium oryzae* parazita pirinča.

Uvod

Prinosi po jedinici površine, koji se postižu u nas, u poređenju sa prinosima drugih zemalja proizvođača pirinča su znatno manji. Međutim, uzrok niskim prinosima nije samo zastareli način gajenja već, kako smo u toku tri godine utvrdili, i usled nepovoljnog ili, bolje rečeno, potpunog nepoznavanja i zanemarivanja pojave bolesti koje, u zavisnosti od godine, nanose manje ili veće štete umanjujući prinose. Problemu zaštite pirinča od bolesti i štetočina u nas nije poklanjano dovoljno, da ne kažemo nimalo, pažnje.

Izvršivši inventarizaciju parazitnih gljiva na pirinču, proučili smo gljivu za koju smo utvrdili da je u toku poslednjih godina (1975—1977) bila i najrasprostranjenija i najštetnija u Kočanskoj Kotlini kao i u drugim lokalitetima proizvodnje pirinča u Makedoniji. To je gljiva *Helminthosporium oryzae* prouzrokovatelj mrke pegavosti i palež kljanaca pirinča.

Materijal i metod rada

Za proučavanje morfologije ove gljive koristili smo monosporne kulture jednog izolata dobijenog sa semena jedne biljke pirinča gajene u Kočanskoj Kotlini. Izolat smo odgajili na krompir dekstroznom agaru na temperaturi od 25°C.

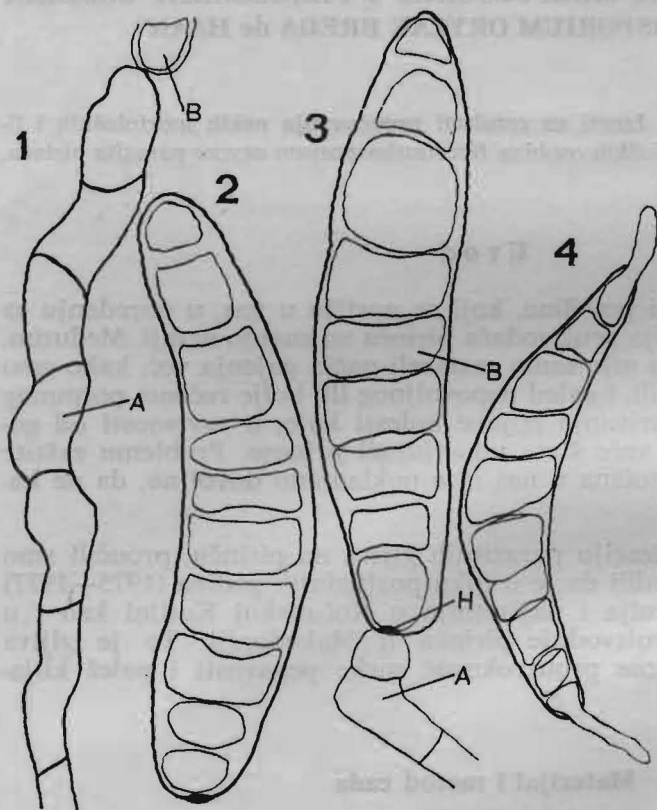
Konidiofore i konidije su merene nakon 10 dana od zasejavanja podloge. Veličine konidiofora i konidija su rezultat merenja po 100 konidiofora i isto toliko konidija. Dobijeni podaci su obrađeni variaciono statistički.

¹⁾ Skraćeni tekst magistarskog rada odbranjenog 26. septembra 1977. godine na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu.

Rezultati rada

a. Kolonija, koja se obrazuje na temperaturi od 25°C, je tokom prve nedelje razvoja nepravilnog oblika sa talasastim ivicama. Za oko 12 dana gljiva zahvata celu površinu podloge u Petri kutiji. Boja micelije je svetlo do tamno crna. Hife su razgranate, širine od 5—12 mikrona i međusobno anastomoziraju.

b. Konidiofore se obrazuju u vidu bočnih ogranaka hife. Pri osnovi su maslinaste boje, do svetlo čađaste, a pri vrhu skoro providne. Veličina konidiofora gljive koja kod nas izaziva mrku pegavost je $150 - 750 \times 8 - 10$ mikrona. Imaju 6—15 septi, po obliku su cilindrične, uspravne na hifu od koje su nastale, a često su nešto povijene pri vrhu na kome se obrazuju konidije, koje se relativno lako odvajaju (crtež 1).



Crtež 1. *Helminthosporium oryzae*: Konidiofore (A) i konidije (B) — *Helminthosporium oryzae*: Conidiophores (A) and conidia (B).

Crtež 2. *H. oryzae*: Izgled konidija — *H. oryzae*: Appearance of conidia.

Crtež 3. *H. oryzae*: Vrh konidiofore (A) sa konidijom (B); hilum (H) — *H. oryzae*: Apex conidiophores (A) and conidia (B); hilum (H).

Crtež 4. Klijanje konidije *H. oryzae* — Germination of conidium of *H. oryzae*.

c. Konidije su dugačke $52 - 124 \times 12 - 22$ mikrona (u proseku $108,5 \times 18,1$ mikron), nešto malo povijene, vrh im je znatno uži od osnove, a nešto niže od sredine konidija je šira za od prilike polovinu od osnove (sl. 1 i crtež 2). Sasvim zrela konidija je smeđe ili mrke boje sa tamnim perifernim zidovima koji su pri krajevima nešto tanji, okružujući slabo vidljivi semeni pupak (hilum) pri osnovi konidije (crtež 3). Broj septi može biti kod većih konidija i do 13. Mi smo nalazili najviše 10.

Ispitujući klijavost konidija u visećoj kapi destilovane vode, utvrdili smo da one na sobnoj temperaturi od oko 22°C vrlo brzo klijaju. Već posle jednog sata konidije počinju da klijaju. Posle 90 minuta bilo je 10% klijalih konidija, posle 2 sata 50%, a posle četiri sata klijalo je 100%.

Skoro sve konidije su klijale sa dve polarne klične cevi — po jedna sa svakog kraja spore (crtež 4). Nakon dva sata zapazili smo da je samo 2% bilo klijanja središnjih ćelija spore. Po Drechsler (1934) ovaj način klijanja se događa kod spora koje nisu potpuno zrele.

Interesantno je da su u raznim zemljama dobijene različite mere konidiofora i konidija (tab. 1).

Tab. 1. Merenje konidiofora i konidija *H. oryzae* u raznim zemljama (Wei, 1957)

Measurements of conidiophore and conidia of *H. oryzae* in different countries (Wei, 1957)

Lokalitet Locality	Autor Author	Konidiofore Conidiophore	Konidije Conidia
Java	Breda de Haan	—	90 × 16 mikrona
Japan	Nisikado	68—688 × 7,6—20 mik.	15—132 × 10—26 mik.
India	Sundararaman	70—175 × 5,6—7 mik.	45—106 × 14—17 mik.
Kina	Wei	90—345 × 7—11 mik.	24—122 × 7—23 mik.
China			
SAD	Drechsler	150—600 × 4—8 mik.	35—170 × 11—17 mik.
U. S. A.			
Jugoslavija	Autor	150—750 × 8—10 mik.	52—124 × 12—22 mik.
Yugoslavia	Author		

Nisikado i Miyake (1922) su smatrali da se radi o dve različite vrste koje su morfološki i fiziološki različite, Američke i Japanske vrste. Međutim, verovatno se radi samo varijantama vrste koje nastaju između ostalog i usled delovanja uslova okoline.

d. Peritecije — mi nismo našli u toku rada na proučavanju gljive.

Fiziološke osobine parazita

Izučavanjem fiziologije gljive ne samo da se mogu bolje razumeti različiti životni procesi i aktivnosti tih organizama, njihov uticaj na okolinu u kojoj se nalaze i kako ta okolina utiče na njih, već su takva proučavanja i osnov za iznalaženje pogodnih mera za njihovo suzbijanje.

Gljive, kao i više biljke, za svoj opstanak zahtevaju azot, ugljenik, kiseonik, sumpor, kalijum, fosfor, magnezijum, mikroelemente kao i optimalnu temperaturu i određenu pH koncentraciju. Kako je utvrđeno, nedostatak ili promena nekog od glavnih elemenata može u mnogome da utiče na porast gljiva, a takođe i da prouzrokuje strukturnu promenu dotičnog organizma. (Cit. po Nikolić, V., 1965).

A. Uticaj temperature na porast parazita

Koliko je nama poznato, prva proučavanja o uticaju temperature na porast i sporulaciju *H. eryzae* je objavio N i s i k a d o (1922). A u našoj domaćoj literaturi podaci o delovanju temperature na porast i sporulaciju gljive, koju smo proučavali, ne postoje.

Ispitivanja smo vršili na čvrstoj krompir dekstroznoj podlozi. Na tu vrstu podloge smo zasejavali fragmentom micelije i podloge na kojoj smo prethodno odgajili gljivu. Inokulum smo stavljali u sredinu Petri kutije, koje smo držali u politermostatu na temperaturama od 7, 11, 14, 20, 25, 27, 30, 32, 34 i 37°C.



Sl. 1. *H. oryzae*:
Konidija formirana na podlozi od krompira — Conidium formed on a potato base.

Za svaku ispitivanu temperaturu smo imali po četiri Petri kutije. Merenja prečnika kolonije gljive vršili smo posle 4, 8, 12, i 16 dana, a jačinu sporulacije određivali smo mikroskopom posle 12 dana od zasejavanja.

Delovanje različitih temperatura na porast i sporulaciju *H. oryzae* dato je u tabeli 2.

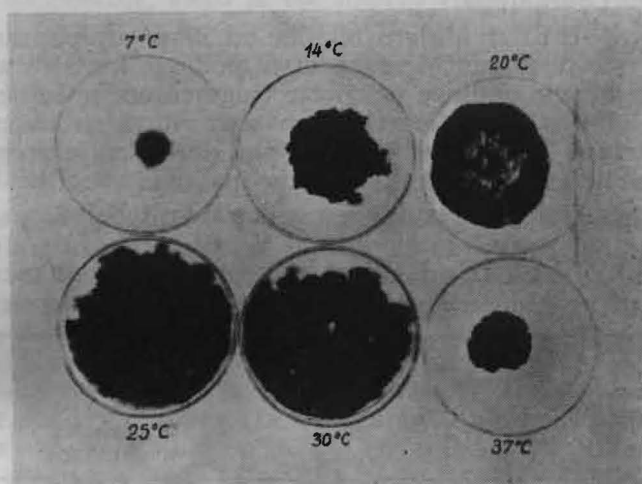
Tab. 2. Uticaj temperature na razvoj *H. oryzae*
Influence of the temperature upon the development of *H. oryzae*

Inkubacija u danima Incubation days	Temperature u °C — Temperatures in °C									
	7	11	14	20	25	27	30	32	34	37
	Prečnik kolonije u sm. — Colony diameter in sm.									
4	—	0,9	1,5	3,0	3,5	4,0	4,3	4,0	3,0	2,5
8	0,5	2,3	3,0	4,8	6,5	8,0	8,0	7,0	5,3	3,5
12	0,6	3,0	3,3	6,0	8,0	8,5	8,5	8,0	5,4	3,8
16	0,9	4,1	5,0	7,0	9,0	9,0	9,0	8,8	5,7	4,1
Sporulacija Sporulation	—	+	+	+	++	++	++	+	+	+

Legenda: — Bez sporulacija — Absent.
+ Slaba — Scanty

++ Srednja — Moderate
+++ Dobra — Good

Kako se iz tabele 2. vidi najbolji porast gljiva je imala na temperaturi od 25, 27, i 30°, dok se minimalna nalazi oko 7°. U našem ogledu gljiva je rasla, istina slabo, i na temperaturi od 37°, što znači da je maksimalna temperatura za ovu gljivu iznad 37° (sl. 2).



Sl. 2. *H. oryzae*: Uticaj temperature (s leva na desno 7, 14, 20, 25, 30 i 37°C) na porast kolonija. Razvoj posle 12 dana — Effect of temperature (left of right 7, 14, 20, 25, 30 i 37°C) on the growth of colonies. Development after 12 days.

Posmatrajući tabelu može se konstatovati da je optimalna temperatura za gljivu u našem ogledu bila 30°, jer je na toj temperaturi već posle 4 dana kolonija imala najveći prečnik.

Naš nalaz u pogledu optimalne temperature za porast *H. oryzae* slaže se sa nalazom Misra i Chatterjee (1963), koji su ustanovili, ispitivajući dva izolata, da je 30° optimum za porast ove gljive.

Što se sporulacije tiče, u našem ogledu smo ustanovili da je najbolja fruktifikacija na temperaturama od 25—30°C, ali smo slabu sporulaciju konstatovali na svim temperaturama od 11—37°.

Misra je takođe našao da je optimum za sporulaciju jednog izolata bio 30°. Interesantno je da drugi izolat u njihovom ogledu uopšte nije sporulisao.

Naši rezultati se slažu i sa nalazima Nisikado (1923), koji je našao da je optimum za porast gljive između 27 do 30°, a da gljiva stvara konidije na temperaturama između 5 do 38°.

Međutim, rezultati koje je dobio Ocfemia (1924) razlikuju se od naših. On je našao da je optimum 28°, minimum 16°, a maksimum za porast gljive 40°.

Razlike kardinalnih temperatura koje su dobili razni autori, mogu se objasniti, kada se zna da postoje sojevi koji se razlikuju po svojim fiziološkim i morfološkim osobinama, kao i po patogenosti i sporulaciji.

B. Uticaj izvora ishrane

Ovim proučavanjima su obuhvaćena ispitivanja uticaja hranljive podloge na razvoj parazita, dejstvo raznih izvora ugljenika, azota i pH vrednosti na porast i sporulaciju gljive.

1. **Uticaj hranljive podloge.** — Ispitivanje uticaja različitih vrsta podloga na porast i sporulaciju gljive vršili smo na tečnim hranljivim podlogama. Upotrebili smo sledeće podloge: Neljušteni pirinač (arpa), Ljušteni pirinač (beli), Ovas, Kukuruz, Luk, Szapek agar, Pepton, Krompir i Šargarepa.

U Erlen Majerove kolbe od 50 ml otpipetirano je po 20 ml od svake vrste podloge. Od svake vrste podloge koristili smo po četiri kolbe. Zasejavanje podloge vršeno je fragmentom micelije i podloge (oko 3 mm). Kolbe su zatim stavljene u termostate na temperaturi od 25°, gde su držane 20 dana. Nakon toga perioda vršen je pregled i ocenjivanje sporulacije i merenje količine suve materije micelije.

Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 3.

Tab. 3. Uticaj hranljive podloge na razvoj parazita
Influence of nutritive base upon the development of the parasite

Podloga Medium	Težina suve substance u mg Dry matter weight in mg	Sporulacija Sporulation
Pirinač neljušten	53,43	+++
Rice no husk		
Ovas — Oat	46,13	++++
Kukuruz — Maize	25,0	++
Pirinač ljušten	21,0	++++
Rice — husk		
Luk — Onion	20,55	++
Czapek — Czapek's	16,48	+++
Pepton — Peptone	7,85	++
Krompir — Potato	6,50	++
Šargarepa — Carrot	6,37	++

Legenda: ++ Srednje obrazovanje konidije
Mean production of conidia

+++ Jako obrazovanje konidija
High production of conidia

++++ Vrlo jako obrazovanje konidija
The most intensive formation of conidia

Kako se iz tabele 3. vidi najbolji je porast bio na podlozi od neljuštenog pirinča (53,43 mg), a zatim od ovsa (46,13 mg). Upola manji porast je bio na podlozi od kukuruza (25 mg), a zatim na ljuštenom pirinču i luku (21 i 20,55 mg). Na Czapek, peptonu, krompiru i šargarepi porast gljive je bio daleko slabiji. Naprimera, težina suve materije micelije na podlozi od šargarepe je bila skoro četiri puta manja od težine suve materije na podlozi od kukuruza, a skoro devet puta manja od težine suve materije micelije na podlozi od neljuštenog pirinča.

Što se sporulacije tiče iz tabele 3. se vidi da je ona bila najbolja na podlozi od neljuštenog pirinča, ovsa i ljuštenog pirinča. Na ostalim podlogama gljiva je fruktificirala slabije.

Misra (1963) je proučavajući uticaj različitih vrsta podloga na porast i sporulaciju *H. oryzae* našao da su najbolje podloge za ovu gljivu

krompir dekstrozni agar i glukozni pepton agar, a da su nešto slabije podloge od ovsu, kukuruza i ekstrakta pirinča. Ovaj autor je konstatovao odličnu sporulaciju na svim upotrebljenim podlogama, osim na Richard-ovom i Coon's agaru gde je sporulacija bila slaba.

S obzirom na to da postoje, kako je već napred rečeno, sojevi — izolati ove gljive koji se razlikuju međusobno morfološki, po odgajivačkim karakteristikama, fiziologiji, sporulaciji itd. nije ništa neobično što se rezultati pojedinih autora ne slažu.

Porast kao i sporulacija izolata koga smo mi proučavali najbolji su na podlogama od neljuštenog pirinča i ovsu, dok su Czapek, pepton, krompir i šargarepa daleko slabiji.

2. *Uticaj vrednosti pH podloge.* — Koncentracija pH podloge može imati na porast velikog uticaja. Ima gljiva koje se najbolje razvijaju na neutralnim podlogama, dok druge zahtevaju alkalne podloge, a ima i takvih koje se razvijaju dobro i na kiselim. Josifović i Arsenijević (1964) su našli, da je za *H. monoceras* najbolja slabo kisela sredina (pH 6,1), a Nikolić i Arsenijević (1964) navode da je najjača sporulacija i najveća vrednost za težinu suve mase *H. allii* dobiven na pH 5,8—6,29. Nikolić i Marić (1964) ustanovili su da je gljiva *Phoma betae*, pokazala veoma ujednačen porast kako i u izrazito kiselim tako i u alkalnim sredinama (pH 4,0—8,5).

Ispitivanja smo vršili na sintetičkoj tečnoj podlozi po Lilly i Barnett (1951) modificiranoj od strane Lukežić et al (1965).

Pre sterilizacije podloge pomoću Beckmann-ovog pehametra podesili smo sledeće vrednosti pH: 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 i 9,0. Sterilizacija je izvršena u autoklavu na temperaturi od 120° pod pritiskom od 1,5 atmosfere za vreme od dvadeset minuta. Posle sterilizacija izvršeno je ponovo određivanje pH i tom prilikom su dobijene sledeće vrednosti: 2,8; 3,0; 4,2; 5,4; 6,3; 7,1 i 8,1. Posle toga podloga je razlivena u kolbe zapremine 50 ml. U svaku kolbicu stavljeno je po 20 ml podloge. U ogledu smo imali sedam varijanti pH vrednosti i to svaku varijantu u četiri ponavljanja. Zasejavanje svake kolbe obavljeno je fragmentima micelije i podloge (0,3 sm). Tako zasejane kolbe stavljene su u termost na temperaturu od 25°.

Posle 20 dana od zasejavanja izvršili smo pregled u pogledu intenziteta sporulacije, a zatim je izvršeno filtriranje i merenje radi upoređivanja porasta gljive. Podloge smo zajedno sa micelijom filtrirali kroz filter papir, a zatim miceliju sušili u toku pet časova na temperaturi od 103 do 105°. Posle filtriranja određivali smo vrednosti pH podloge radi utvrđivanja promena nastalih za vreme razvoja gljive. Sporulaciju smo utvrđivali pre filtriranja mikroskopskim pregledom micelije svake kolbe.

Rezultati ispitivanja uticaja vrednosti pH na porast i sporulaciju gljive dati su u tabeli 4.

Iz tabele se vidi da je najbolji porast dobijen na podlozi početne vrednosti pH 7,1, a nešto slabiji na pH 6,3. Na najnižim ispitivanim vrednostima pH (2,8 i 3,0) gljiva uopšte nije rasla.

Na ostalim vrednostima pH gljiva je rasla mnogo slabije. Što se tiče sporulacije ona je bila najbolja na podlozi početne vrednosti pH 7,1,

a nešto slabija na pH 6,3. Na podlozi početne vrednosti pH 4,2 nije bilo sporulacije, a na pH 5,4 i 8,1 ona je bila slaba. Iz tabele se još vidi da je promena vrednosti pH koja nastaje za vreme sterilizacije znatno manja u odnosu na promenu koja nastaje kao rezultat dejstva gljive.

Tab. 4. Uticaj pH vrednosti na porast i sporulaciju *H. oryzae*
Effect of pH values on the development and sporulation of *H. oryzae*

Početna pH Initial pH	pH posle steril. pH after sterilization	pH posle filtriranja pH after filtration	Težina suve mase u mg Weight of dry mater of micelia in mg	Sporulacija Sporulation
3,0	2,8	2,2	—	—
4,0	3,0	2,3	—	—
5,0	4,2	2,2	10,97	—
6,0	5,4	2,3	11,02	—
7,0	6,3	2,5	14,66	+++
8,0	7,1	6,3	18,87	++++
9,0	8,1	7,3	9,35	+

Legenda: — Bez sporulacija, + Oskudna, ++ Srednje (umerena) +++ Dobra, ++++ Obilna
Absent, Scanty, Moderate Good Abundant

Nisikado (1922) je našao da je najbolji porast gljive na podlozi sa vrednošću pH 6,6 do 7,4, a da se konidije javljaju na pH od 2,6 do 10,9.

Ocfemia (1924) je konstatovao da je porast gljive najbolji pri pH vrednosti od 8,6 do 8,8, a da je minimum 2,4 do 2,6.

Misra i Chatterjee (1963) su našli da je optimalan porast izolata označenog sa IB bio kada je vrednost pH iznosila 5,0, dok je izolat IS najbolje rastao na pH 6,0. Izolat IS je sporulisao na svim vrednostima pH, a najbolje na pH 6,0 dok izolat IB nije uopšte obrazovao konidije.

Dakle i kod ovih ispitivanja se pokazalo da rezultati zavise od izolata koji se ispituju.

3. *Uticaj različitih izvora ugljenika.* — Za ova ispitivanja smo koristili sintetičku tečnu podlogu kao i za prethodna ispitivanja. Od izvora ugljenika koristili smo sledeće: Skrob, maltozu, fruktozu, glukozu, galaktozu, dekstrin i acidum maleikum (jabolčna kiselina). Kao kontrola služila nam je osnovna podloga bez izvora ugljenika uklanjanjem dekstroze. Svaki od napred pomenutih izvora ugljenika dodavan je osnovnoj podlozi u ekvivalentnim količinama 20 gr. dekstroze. Podloga je u kolbi od 500 ml. sterilisana u autoklavu za vreme od 20 minuta na 1,5 atmosferi.

Sterilisanoj podlozi dodati su vitamini koji su prethodno sterilisani. Zatim je po 20 ml podloge otpipetirano u kolbe od 50 ml. Za svaki ispitivani izvor ugljenika imali smo po četiri kolbe.

Zasejavanje smo vršili kao i u prethodnim ogledima. Zasejane kolbe držali smo u termostatu 20 dana na temperaturi od 25°C. Posle tog vremena određivali smo stepen sporulacije pomoću mikroskopa, a zatim je izvršeno filtriranje i merenje radi utvrđivanja porasta gljive.

Rezultati dobijeni u pogledu prosečne težine suve materije i sporulacije izneti su u tabeli 5.

Tab. 5. Uticaj različitih izvora ugljenika na porast i sporulaciju *H. oryzae*

Effect of different sources of carbon on growth and spormlation of *H. oryzae*

Izvor ugljenika Carbon source	Težina suve supst. u mg Dry wt. of micelyum in mg.	Sporulacija ¹⁾ Sporulation ¹⁾
Skrob — Starch	35,81	+++
Maltoza — Maltose	16,26	+++
Fruktoza — Fructose	15,54	+++
Glukoza — Glucose	15,22	+++
Galaktoza — Galactose	14,70	+++
Dekstrin — Dextrin	14,69	+++
Jabučna kiselina — Acid maleic	4,58	—
Kontrola — Control	1,21	T

1) T tragovi, — oskudna, ++ umerena, +++ dobra
traces, scanty, moderate, good

Iz tabele se vidi da je skrob bio najpovoljniji izvor ugljenika za gljive (35,81 mg), dok su ostali izvori bili slabije korišćeni od strane gljive. Naslabiji porast je dobiven na podlozi u kojoj je kao izvor ugljenika bila jabučna kiselina.

Na kontroli bez izvora ugljenika gljiva se razvijala u vidu vrlo ne-žne i rastresite micelije.

T a n a k a je 1963. godine (cit. po S. H. Ou, 1972) ustanovio da je najbolji porast gljive dobio na maltozi, a najslabiji na glicerinu. Interesantno je da na podlozi, gde je izvor ugljenika bio rastvorljivi skrob ili laktoza, on je ustanovio da nije bilo porasta gljive.

Misra i Mukerjee (1962) su najbolji porast dobili na manitolu, dobar porast na saharozi i glikozi, a minimalni porast na laktozi.

Chen et al. (1964) našli su da je maltoza bila najbolji izvor ugljenika na porast, a najslabiji arabinoza.

Što se sporulacije tiče, u našem ogledu svi ispitivani izvori ugljenika bili su povoljni za obrazovanje konidija osim jabučne kiseline. Na kontroli smo konstatovali sporulaciju u tragovima.

Sigurno je da je jedan od razloga što su rezultati dobijeni od raznih autora različiti, što su za ogled upotrebljavani različiti sojevi gljive.

4. *Uticaj različitih izvora azota.* — Koristili smo za ogled sintetičku tečnu podlogu kao i za prethodna ispitivanja o uticaju različitih izvora ugljenika, s tim što smo iz nje izostavili amonijum hlorid (3 gr), a umesto njega dodavali u ekvivalentnim količinama izvore azota koje smo želeli da ispitamo. U ogledu smo imali sledeće izvore azota: asparagin, alanin, amonijum tartarat, kalijum nitrat, natrijum nitrat, ureju, amonijum nitrat, amonijum hlorid i tioureju.

Kao kontrola služila nam je osnovna podloga bez izvora azota.

Tab. 6. Uticaj različitih izvora azota na porast i sporulaciju *H. oryzae*
 Effect of different sources of nitrogen on growth and sporulation
H. oryzae

Izvor azota Nitrogen source	Težina suve supst. u mg Dry wt. of micelium in mg	Sporulacija Sporulation
1	2	3
Asparagin — Asparagin	29,45	+++
Amonijum tartarat Ammonium tartarate	21,57	+++
Alanin — Alanine	21,58	+++
Kalijum nitrat Potassium nitrate	20,17	+++
Natrijum nitrat Sodium nitrate	18,33	+++
Ureja — Urea	17,0	+++
Amonijum sulfat Amonium sulphate	13,54	++
Amonijum nitrat Ammonium nitrate	12,62	—
Amonium hlorid Ammonium chloride	9,42	—
Tioureja — Thiourea	5,18	—
Kontrola — Control	4,76	+

Legenda:

— odsutna, + slaba, ++ srednja, +++ dobra
 absent, scanty, moderate, good

Iz tabele se vidi da je gljiva najbolje koristila asparagin (29,45 mg), a da su alanin, amonijum tartarat i kalijum nitrat bili nešto manje povoljni izvori azota za ovu gljivu (21,58; 21,57 i 20,17 mg). Još manji porast gljiva je imala na podlogama gde su izvori azota bili natrijum nitrat i ureja (18,33 i 17,00 mg). Znatno slabiji porast gljiva je imala na podlogama sa amonijum hloridom i tiourejom (9,42 i 5,18 mg). Na kontroli, koja je bila bez izvora azota, bio je najmanji porast (4,76 mg).

Što se sporulacija tiče ona je bila vrlo dobra na podlogama sa asparaginom, alaninom, amonijum tartaratom, kalijum nitratom, natrijum nitratom i urejom, dobra sa amonijum hloridom, a sa amonijum nitratom, amonijum hloridom i tiourejom, uopšte nije bilo sporulacije. Na kontroli, na kojoj je porast bio najslabiji obrazovanje konidije je bilo vrlo slabo.

Das i Baruah (1947) su našli da je pepton bio od pet ispitivanih izvora azota najbolje korišćen od strane *H. oryzae*.

Misra et al. (1962) su takođe konstatovali da je pepton bio najbolji korišćeni izvor azota, a kalijum nitrat, natrijum nitrat i ureja su znatno slabije korišćeni od strane gljive. Oni su našli takođe da osim peptona svi ostali ispitivani izvori azota umanjuju obrazovanje konidije.

Chenet et al. 1964, su našli da su kao izvori azota amonijačne soli bolje od nitrata za porast gljive.

Svi izvori azota, kao i ugljenika nisu povoljni za porast svih gljiva, a isto tako nisu povoljni ni za sporulaciju svih gljiva. Oni koji su po-

voljni za porast micelije nisu i ne moraju biti povoljni za sporulaciju. Ako se tome doda da se pri ovakvim ispitivanjima radi različitim izolatima, onda nije neobjašnjivo postojanje razlike u rezultatima koje postižu razni autori.

Zaključak

U čistoj kulturi *H. oryzae* raste vrlo brzo. Kolonija koja se obrazuje na temperaturi od 25°C je tokom prve nedelje razvoja nepravilnog oblika sa talasastim ivicama. Za oko 12 dana razvoja gljiva zahvata celu površinu podloge u Petri kutiji u vidu guste micelije, svetlo do tamno crne boje.

Micelija je septirana, a hife razgranate, širine od 5—12 mikrona.

Konidiofore se obrazuju u vidu bočnih ogranaka hifa. Pri osnovi su maslinaste boje do svetločadaste, a pri vrhu skoro providne. Veličina konidiofore je 150—750 × 8—10 mikrona. Imaju 6—15 septi, po obliku su cilindrične, uspravne na hifu od koje su nastale, a često su nešto povijene pri vrhu na kome se obrazuju konidije.

Veličina konidija je 52—124 × 12—22 mikrona, nešto malo su povijene, a vrh im je znatno uži od osnova. Sasvim zrela konidija je smeđe ili mrke boje, a sa tamnim perifernim zidovima koji okružuju slabo vidljivi hilum. Broj septi može biti kod većih konidija i do 13, mi smo nalazili najviše 10. U povoljnim uslovima vlažnosti i temperature, konidije klijaju u roku od jednog sata, sa dve polarne kličine cevi — po jedna na svakom kraju spore.

Optimalna temperatura za porast gljive je 30°C dok je minimalna 7°, a maksimalna iznad 37°. Najbolja fruktifikacija je bila na temperaturi od 25—30°.

Najbolji je porast bio na podlozi od neljuštenog pirinča, a zatim od ovsu. Upola manji porast je bio na podlozi od kukuruza, a zatim na ljuštenom pirinču i luku. Na Czapek-ovoj podlozi i podlogama od peptona, krompira i šargarepe porast gljive je bio daleko slabiji.

Gljiva se najbolje razvijala na podlozi pH 7,1, a nešto slabije na pH 6,3. Na najnižim ispitivanim vrednostima pH (2,8 i 3,0) gljiva uopšte nije rasla.

Skrob je bio najbolji izvor ugljenika za porast i sporulaciju gljive. Najslabiji porast je dobiven na podlozi u kojoj je kao izvor ugljenika bila jabučna kiselina.

Asparagin je bio najbolji izvor azota za porast parazita, dok su alanin, amonijum tartarat i kalijum nitrat bili nešto manje povoljni izvori azota. Naslabiji je porast bio na podlogama u kojoj su kao izvori azota bili amonijum hlorid i tiourea.

(Primljeno 25. 12. 1978)

LITERATURA

- Chen, Y. S., Ren, H. C., Fang, C. T. (1964): Studies on the carbon and nitrogen nutrition of *Pyricularia oryzae* and *Helminthosporium oryzae*. Acta phytopath. sn 7: 165—174. Kina.
- Das, C. R., Baruah, H. K. (1947): Experimental studies on the parasitism of rice by *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan, and its control in field and storage. Trans. Bose Res. Inst. 13: 31—46. (abst. RAM. XXVII: 294. 1948).
- Drechsler, C. (1934): Phytopathological and taxonomic aspect of *Ophiobolus*, *Pyrenophora*, *Helminthosporium* and a new genus, *Cochliobolus*. Phytopathology 24: 953—985. (abst. RAM, vol. XIV: 124, 1935).
- Ellis, M. B. (1971): Dematiaceous hyphomycetes. Principal Micologisz, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surry, England.
- Josifović, M., Arsenijević, M. (1964): Prilog proučavanju *Helminthosporium monoceras* Drechsl. kao parazita muhara i kukuruza. Tir a-part de »Plant protection«, № 79, Beograd.
- Karov, I. (1977): Kraći opis nekih parazitnih gljiva na pirinču iz Makedonije. »Savremena poljoprivreda« br. 9—10, Novi Sad.
- Lilly, V. G., Barnett, H. L. (1951): Physiology of fungi. Mc Grow Hill Book Company, Inc. New York.
- Lukezić, F. L., De Vay, J. E. (1965): Comparative Physiology and Pathogenicity of *Leucostoma persoonii* and *Rhodosticta quercina*. Phytopath. 55: 511—518.
- Misra, A. P., Chatterje, A. K. (1963): Comparative study of two isolates of *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan. Indian Phytopath. 16: 275—281.
- Misra, A. P., Mukherjee, A. K. (1962): Effect of carbon and nitrogen nutrition on growth and sporulation of *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan. Indian Phytopath. 15: 211—215.
- Misra, A. P., Mukherjee, A. K. (1962): Salation in *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan. Curr. Sci. 31: 27—28.
- Nikolić, V., Marić, A. (1964): Neke fiziološke osobine *Phoma betae* (Oud) Franc. Letopis naučnih radova Poljop. fakulteta u Novom Sadu, sveska 8.
- Nikolić, V., Arsenijević, M. (1964): *Helminthosporium allii* Camp. nov parazit belog luka u Jugoslaviji. Poseban otisak časopisa »Savremena poljoprivreda« br. 4. Novi Sad.
- Nisikado, Y., Miyake, C. (1922): Studies on the *Helminthosporioze* of the rice plant. Ber. Ohara Inst. landw. Forsch. 2: 133—194. (abst. RAM, vol. II. 1923).
- Ocfemia, G. O. (1923): The *Helminthosporium* disease of rice. abst. in Phytopath. 13: 53.
- Ou, S. H. (1972): Rice diseases. Commonwealth mycological Institute Kew, Surrey, England.
- Tanaka, H., Akai, S. (1963): On the influence of some nutritional elements on the susceptibility to *Helminthosporium* leaf spot of rice plants. Ann. Phytopath. Soc. Japan 28: 144—152. (cit. po Ou S. H. 1972).

STUDY OF SOME MORPHOLOGIC AND PHYSIOLOGIC PROPERTIES
OF HELMINTHOSPORIUM ORYZAE BREDA DE HAAN

I. Karov, M. Sc.

Institute for Rice, Kočani

Summary

In the present paper are set forth the results of the study of some morphologic and physiologic properties of *H. oryzae*. Mycelium is septate and hyphae ramified, width from 5 to 12 micron.

Conidiophores are formed in shape of lateral spurs of hyphae. Near the basis they are of olive to light sooty colour and near the top almost transparent. The size of conidiophores is $150-750 \times 8-10$ microns. They have 6—15 septa, cylindrical in form, perpendicular to the hypha which they originated from, and often are bent towards the top on which they form conidia.

The size of conidia is $52-124 \times 12-22$ microns, they are somewhat bent and their top is considerably narrower than the basis.

The optimum temperature for the growth of fungi is 30°C , whereas the minimum one is 7°C and the maximum above 37°C . The best fructification occurred at the temperature of $25-30^{\circ}\text{C}$.

The fungus develops best on the base of pH 7.1 and a little less at pH 6.3. At the lowest examined values of pH (2.8 and 3.0) the fungus did not grow at all.

Asparagine was the best source of nitrogen for the growth of the parasite, whereas alanine, ammonium tartarate and potassium nitrate were somewhat less favourable nitrogen sources. The poorest growth occurred on the bases in which ammonium chloride and thiourea stood as nitrogen sources.